

4/3/1

DIALOG(R) File 347:JAPIO
(c) 2004 JPO & JAPIO. All rts. reserv.

04787462

ENDOTOXIN REMOVING DEVICE AND PRODUCTION OF PURIFIED BLOOD

PUB. NO.: 07-080062 [JP 7080062 A]

PUBLISHED: March 28, 1995 (19950328)

INVENTOR(s): YOSHIDA HAJIME

TAKENAKA YOSHINORI

APPLICANT(s): ASAHI MEDICAL CO LTD [468406] (A Japanese Company or
Corporation), JP (Japan)

APPL. NO.: 05-253625 [JP 93253625]

FILED: September 17, 1993 (19930917)

JC13 Rec'd AT CT/PTO 08 APR 2005

BEST AVAILABLE COPY

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-80062

(43)公開日 平成7年(1995)3月28日

(51)Int.Cl.⁶
A 61 M 1/36

識別記号
9052-4C

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数2 FD (全7頁)

(21)出願番号 特願平5-253625

(22)出願日 平成5年(1993)9月17日

(71)出願人 000116806

旭メディカル株式会社

東京都千代田区内幸町1丁目1番1号

(72)発明者 吉田一

大分県大分市大字里2620番地 旭メディカル株式会社内

(72)発明者 竹中良則

大分県大分市大字里2620番地 旭メディカル株式会社内

(74)代理人 弁理士 佐々木俊哲

(54)【発明の名称】 エンドトキシン除去器および浄化血液の製造方法

(57)【要約】

【目的】 顆粒球や単球などの白血球成分を除去することで、間接的に血液中から、エンドトキシン及び/またはエンドトキシンに起因するサイトカインを除去するための除去器及び該除去器を用いた浄化血液の製造方法を提供する。

【構成】 孔径1μm以上100μm以下の孔の孔容積率が30%以上90%以下である顆粒球及び/または単球捕捉性材料を内蔵した、顆粒球及び/または単球を採取する事によって、エンドトキシン含有血液中よりエンドトキシン及び/またはエンドトキシンに起因するサイトカインを除去する除去器。

3/5/1DIALOG(R) File 345:Inpadoc/Fam.& Legal Stat
(c) 2004 EPO. All rts. reserv.

12330806

Basic Patent (No,Kind,Date): JP 7080062 A2 950328 <No. of Patents: 001>

PATENT FAMILY:

JAPAN (JP)

Patent (No,Kind,Date): JP 7080062 A2 950328

ENDOTOXIN REMOVING DEVICE AND PRODUCTION OF PURIFIED BLOOD (English)

Patent Assignee: ASAHI MEDICAL CO

Author (Inventor): YOSHIDA HAJIME; TAKENAKA YOSHINORI

Priority (No,Kind,Date): JP 93253625 A 930917

Applie (No,Kind,Date): JP 93253625 A 930917

IPC: * A61M-001/36

CA Abstract No: * 122(26)322493H; 122(26)322493H

Derwent WPI Acc No: * C 95-157923; C 95-157923

Language of Document: Japanese

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 07-080062

(43)Date of publication of application : 28.03.1995

(51)Int.CI. A61M 1/36

(21)Application number : 05-253625 (71)Applicant : ASAHI MEDICAL CO LTD

(22)Date of filing : 17.09.1993 (72)Inventor : YOSHIDA HAJIME
TAKENAKA YOSHINORI

(54) ENDOTOXIN REMOVING DEVICE AND PRODUCTION OF PURIFIED BLOOD

(57)Abstract:

PURPOSE: To provide the removing device for indirectly removing endotoxin and/or cytokine occurring from the endotoxin from blood by removing white blood cell components, such as granulocytes and monocytes and the process for production of the purified blood by using the removing device.

CONSTITUTION: This removing device contains a granulocyte and/or monocyte capturing material having 30 to 90% pore volumetric rate of pores of pore sizes of 1 to 100 μ m, removes the endotoxin and/or the cytokine occurring from the endotoxin from the endotoxin-contg. blood by sampling the granulocytes and/or monocytes.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 28.02.2000

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 30.01.2002

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection] 2002-03407

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection] 28.02.2002

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

M

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-80062

(43)公開日 平成7年(1995)3月28日

(51)Int.Cl.^{*}

A 61 M 1/36

識別記号

府内整理番号

9052-4C

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数2 FD (全7頁)

(21)出願番号 特願平5-253625	(71)出願人 旭メディカル株式会社 東京都千代田区内幸町1丁目1番1号
(22)出願日 平成5年(1993)9月17日	(72)発明者 吉田一 大分県大分市大字里2620番地 旭メディカル株式会社内 (72)発明者 竹中良則 大分県大分市大字里2620番地 旭メディカル株式会社内 (74)代理人 弁理士 佐々木俊哲

(54)【発明の名称】 エンドトキシン除去器および浄化血液の製造方法

(57)【要約】

【目的】 顆粒球や单球などの白血球成分を除去することとで、間接的に血液中から、エンドトキシン及び／またはエンドトキシンに起因するサイトカインを除去するための除去器及び該除去器を用いた浄化血液の製造方法を提供する。

【構成】 孔径1μm以上100μm以下の孔の孔容積率が30%以上90%以下である顆粒球及び／または单球捕捉性材料を内蔵した、顆粒球及び／または单球を採取する事によって、エンドトキシン含有血液中よりエンドトキシン及び／またはエンドトキシンに起因するサイトカインを除去する除去器。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 孔径1μm以上100μm以下の孔の孔容積率が30%以上90%以下である顆粒球及び/または単球捕捉性材料を内蔵した、顆粒球及び/または単球を採取する事によって、エンドトキシン含有血液中よりエンドトキシン及び/またはエンドトキシンに起因するサイトカインを除去する除去器。

【請求項2】 孔径1μm以上100μm以下の孔の孔容積率が30%以上90%以下である顆粒球及び/または単球捕捉性材料を内蔵した除去器を用いて、顆粒球及び/または単球を採取する事によって、エンドトキシン含有血液中よりエンドトキシン及び/またはエンドトキシンに起因するサイトカインを除去した浄化血液を製造する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、血液中のエンドトキシン及び/またはエンドトキシンに起因するサイトカインを除去する技術に関する。

【0002】

【従来の技術】 エンドトキシンは、血液中で発熱、血圧低下、血管内凝固、ハーゲマン因子の活性化など種々の生物活性を示す。特に臨床の場では、例えば外科手術後に患者血液中に混入したエンドトキシンによって重篤な悪性の症状を誘発する。この症状の治療或いは予防的目的でポリプロピレン製の不織布に、エンドトキシンとの結合性を有するポリミキシンBを共有結合したエンドトキシン吸着材が知られている。この吸着材は血漿中のエンドトキシンを吸着除去しようとするものである。しかし、ポリミキシンBは溶液中に溶解した状態では、なるほどエンドトキシンとの結合性を有するが、本発明者らの研究によると、ポリミキシンBを不溶化することによってエンドトキシンとの結合性は著しく低下してしまうことがわかった。これはおそらく不溶化することによって除去材として用いている不織布そのもの、或いは不織布との化学的結合手によって立体的にエンドトキシンとの結合を阻害するために結合力が低下するため、及びポリミキシンBが溶解状態と不溶化状態とでは、ポリミキシンBとエンドトキシンとの接触が非常に起こりにくくなるためであると考えられた。しかも除去材が不織布であり、エンドトキシンの吸着に有效地働く表面積が少なく、やはりエンドトキシンの吸着能力の点で十分ではなかった。しかもエンドトキシンは血球成分にも付着しており、これらのエンドトキシンを前記ポリミキシンBではほとんど除去できず、よって実用上十分に使用できるものではなかった。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 本発明の目的は、血液中からのエンドトキシン及び/またはエンドトキシンに起因するサイトカインの除去、特に顆粒球や単球などの

2

白血球成分との付着性を有するエンドトキシン及び/または該エンドトキシンに起因するサイトカインを除去するための、優れた除去器及び該除去器を用いたエンドトキシン及び/またはエンドトキシンに起因するサイトカインを除去した血液の製造方法を提供することにある。

【0004】

【課題を解決するための手段】 エンドトキシン含有血液はエンドトキシンによって特に白血球より癌死因子、インターロイキン1、インターロイキン6、インターフェロンなどの種々のサイトカインや、酸過酸化物が放出されており、これら過剰なサイトカインが生理的悪影響を及ぼすことが知られている。そこで本発明者等の研究によると、サイトカイン放出の原因となっているエンドトキシン、特に顆粒球や単球表面に付着したエンドトキシンを除去し、或いはエンドトキシンによる過剰なサイトカインの生産を予防して、エンドトキシン含有血液の状態を改善することが重要であることを分った。本発明は、顆粒球或いは単球などの白血球成分への付着性のエンドトキシンを、顆粒球或いは単球を本捕捉材に付着させることによって間接的に血液中より除去しようとするものである。更には顆粒球及び/または単球を捕捉することによって、該エンドトキシンに起因するサイトカインの生産を抑制して血液中のサイトカイン濃度の上昇を予防しようとするものである。サイトカインは本来血液中で迅速に代謝されるものであり、この、代謝速度を越えたサイトカインの過剰な生産を抑制することは、血液中の濃度を低下させることになる。あわせて白血球の放出する酸過酸化物濃度の上昇も同時に抑制できる。更に、捕捉材に付着した顆粒球や単球は、緩衝作用を有する、塩を含む水溶液で洗浄、或いは培養することによってエンドトキシンを除去した顆粒球や単球を回収することもできる。この顆粒球や単球は再度血液と混合することにも利用できる。ここで培養とは顆粒球や単球を一定時間生理条件下に置くことをいう。より具体的には顆粒球及び/または単球捕捉性材料を内蔵した、顆粒球及び/または単球を採取する事によって血液中よりエンドトキシン及び/または該エンドトキシンに起因するサイトカインを除去する除去器と、該除去器を用いて血液中よりエンドトキシン及び/またはエンドトキシンに起因するサイトカインを除去した血液を製造する方法に関する。

【0005】 エンドトキシンの説明
エンドトキシンとはグラム陰性菌細胞壁外膜を構成する主成分として知られる、リボ多糖、或いはリボ多糖と蛋白質との複合体である。リボ多糖はリビドAとリボ多糖との多様な化合物として知られている。

【0006】 捕捉材

本発明でいう顆粒球及び/または単球捕捉性材料（以下捕捉材と称す）は、糸状、スポンジ状、ビーズ状、チップ状、中空糸状、平膜状等いずれの形状であっても良

50

い。この中でも取扱い性の点で糸状、スponジ状、ビーズ状が好ましく用いられ、特に糸状、スponジ状のものが捕捉性能の点で最も優れている。糸状のものは、そのまま例えば綿状にして用いることもできるし、織布、或いは不織布状、更には短く裁断して使用することができるが、やはり取扱い性や捕捉性能の点で不織布であることが好ましい。

【0007】捕捉率

捕捉材の顆粒球或いは単球の捕捉性は、捕捉率で表すことができる。捕捉率は、低すぎると本発明の目的である顆粒球及び/または単球を採取する事によって血液中よりエンドトキシン及び/または該エンドトキシンに起因するサイトカインを除去することが、十分に達成できない。上限の規定は、除去が目的であるため不要である。ここでいう捕捉率は、除去器の内容積(アライミングボリーム)の5倍量の血液を灌流した時の、除去器での処理前後の顆粒球及び/または単球数の低下率である。この時抗凝固剤は通常用いられるクエン酸系のもの、ヘパリンなど抗トロンビン作用を有するもの、或いはメシリ酸ナファモスタッフなど蛋白分解酵素阻害作用を有するものなどいずれであっても良いが捕捉材の材質や表面状態によって変動する場合がある。そのため次の方法で測定することとする。抗凝固剤としてACD-A液11.1%を含む牛の血液を血液溜に入れて37℃に保温しておく。牛の血液は採血後5時間以内のものを用いることとする。この時血液中の血球成分が沈降しないように静かに攪拌しておく。この血液を、除去器の内容積の1/3容量/分の流速で灌流する。除去器の内容積の5倍量の血液を灌流し、除去器出口の血液を採取する。この血液を、除去器入口の血液溜中の血液に対して、常法に従って染色し、顕微鏡下で顆粒球及び/または単球数を測定する。この測定結果より、捕捉率を求めることができる。

$$\text{捕捉率} (\%) = [(1 - (\text{除去器出口の濃度}) / (\text{除去器入口の濃度})) \times 100]$$

こうして求めた捕捉率は60%以上であることが好ましく、70%以上の時より好ましい。捕捉率は、エンドトキシン除去の目的においては高ければ高いほど好ましいが、例えば体外循環に用いるときには顆粒球或いは単球を完全に捕捉することは免疫機能低下につながる場合があるため必ずしも好ましくはない。そこで捕捉率は98%以下であることが好ましい。更に好ましくは96%以下である。

【0008】材質

捕捉材には、ポリエチレンテレフタレート、ポリブチレンテレフタレート及びポリオキシエチレンテレフタレート等のポリエステル、ポリアクリロニトリル、ナイロン6、及びナイロン6、6等のポリアミド、芳香族ポリアミド、ポリスチレン及びその誘導体、ポリエチレン、ポリプロピレン、及びポリブテン等のポリオレフィン、メ

チルメタクリレート、及びエチルメタクリレート等のメタクリル酸エステル誘導体を重合して得られる高分子化合物、メチルアクリレート、及びエチルアクリレート等のアクリル酸エステル誘導体を重合して得られる高分子化合物、ポリトリフルオロクロロルエチレン、ポリビニルマール、ポリスルホン、ポリウレタン、ポリビニルアセタール、ポリカーボネイト等の合成高分子化合物で、上記高分子化合物の単量体の単独重合体、共重合体、ブロック重合体及び上記高分子化合物の、ブレンド及びアロイ化したものを含むものや、セルロース及び/またはその誘導体等の再生繊維及び上記に示した合成高分子化合物とのブレンド、アロイ化したものを含むものなどが挙げられる。上記の中で、特にポリエチレンテレフタレート、ポリブチレンテレフタレート、ポリオキシエチレンテレフタレートなどのポリエステル系、及びポリオレフィン系の合成高分子材料が不織布への成形性や、得られる不織布の繊維径、繊維によって形成される細孔状態等が制御し易く、またこれが顆粒球や単球等の捕捉能力に大きく影響するために特に好ましい。ポリエステル系合成高分子材料は、更に、後述する血液の濡れ性の点でも好ましい。

【0009】捕捉材の製造方法

本発明の捕捉材の具体的な製造法の例としては、常圧発泡法、加圧発泡法、押出発泡法、射出発泡法等の発泡分解法、溶剤気散法、気体混入法、化学反応法、溶出法、焼結法等の公知の方法があげられる。更に、熱プレス圧縮、適当な液体による凹溝等の2次加工を施し、本発明で規定する孔径分布になるように制御したものがより好ましい。また、繊維状のものの製造としてはメルトプロ一法やフラッシュ紡糸等の方法が挙げられ、更に製造された繊維にプレス圧縮や熱収縮、適当な液体による処理等の2次加工を施し、本発明で規定する孔径分布になるように制御したものがより好ましい。

【0010】接触角の定義、接触角の至適範囲

液体を捕捉材表面と接触させ、液体と捕捉材表面とのなす角を接触角θとした時、捕捉材表面の親水性を接触角で表せる。接触角は、表面張力100dy/cmの液体を用い、捕捉材表面に該液滴を落とした時の、液滴と捕捉材との接点における接線と捕捉材平面との成す角を測定することによって求められる。接触角をθとすると、θが120度以下のときエンドトキシン除去に先だって行う湿润化が容易である。更に、有用な血漿タンパクが吸着するのを防ぐことができることより、好ましくは接触角が90度以下であることがあげられ、更には70度以下の時最も好ましい。

【0011】孔の定義

本発明でいう孔は、例えば不織布等の繊維状材料の場合は繊維と繊維とによって形成される空間、またスponジ様の多孔質材料では材料内に形成される空間など、例えば3次元的な網目様の空間をいい、白血球採取の目的で

利用される。このため本発明でいう孔は血球が通過する流路を形成し、貫通したものであることが好ましい。本発明の目的である顆粒球或いは単球の捕捉には、血球の流路を確保して血液処理時の目詰まりを防止するために孔径は $1\text{ }\mu\text{m}$ 以上であることが好ましく、より好ましくは $3\text{ }\mu\text{m}$ 以上である。また血液処理時に捕捉材と顆粒球或いは単球とがより多く接触するように設計することが好ましく、孔径が大きすぎると顆粒球或いは単球の漏れが多くなり、好ましくない。孔径は $100\text{ }\mu\text{m}$ 以下であることが好ましく、更に好ましくは $50\text{ }\mu\text{m}$ 以下であり、 $30\text{ }\mu\text{m}$ 以下であるとき最も好ましい。

【0012】孔の分布

顆粒球や単球の捕捉の効率を高め、一定容積に多数の顆粒球や単球が付着できる表面積を確保するためには至適な孔径の孔が多数存在することが好ましい。このため孔径が $1\text{ }\mu\text{m}$ 以上 $100\text{ }\mu\text{m}$ 以下の孔がより多く存在することが好ましい。孔の量を、実用状態の捕捉材の容積に対する $1\text{ }\mu\text{m}$ 以上 $100\text{ }\mu\text{m}$ 以下の孔の占める容積の割合、即ち孔容積率で表す時、30%以上であることが好ましい。更に40%以上であることがより好ましい。ところで孔容積率が大きくなりすぎると、捕捉材の強度が低下しやすくなり目詰まりを起こして圧力が上昇しやすくなることがわかった。このため孔容積率は90%以下であることが好ましく、より好ましくは80%以下である。より好ましい範囲の孔径が、上記割合にあることで更に良好な結果を得ることができる。最も好ましい例は、 $3\text{ }\mu\text{m}$ 以上 $30\text{ }\mu\text{m}$ 以下の孔の孔容積率が40%以上80%以下のときである。

【0013】孔の容積、面積の求め方

孔の容積、面積は水銀圧入法による水銀圧入曲線から得ることができる。水銀圧入法による測定は、 $1\sim2650\text{ p s i a}$ の圧力範囲で測定した値とする。ここで孔はできるだけ実用時に近い状態での値であることがよいが、本発明者らの研究では、纖維状の捕捉材では、纖維の一部を切り出して巣潤などによる纖維長の変化を光学顕微鏡で測定し、表面積は纖維長の変化率の2乗倍、容積は纖維長の変化率の3乗倍して補正することとした。また、容器への充填時に圧縮によって捕捉材の容積が $1/X^3$ となる時は、孔径は $1/X$ となるとして、孔の容積、面積の測定時と実用時の差を補正することとする。一方スポンジ状では捕捉材の縦、横及び厚さを測定して体積の変化率を求め、この変化率だけ孔の容積が変化したとする。面積の変化率は容積の変化率の $2/3$ 乗であるとする。またビーズ状などでは、捕捉材の径の変化を光学顕微鏡で測定し、表面積は捕捉材径の変化率の2乗、細孔容積は捕捉材径の変化率の3乗倍して補正する。平均孔径は水銀圧入法とは別に、走査型電子顕微鏡によって得た像より多数の細孔の面積を求め、円に換算した時の径より平均径を求ることもできる。例えば走査電子顕微鏡で捕捉材の表面を撮影し、目視により撮影

面上に分散している細孔の面積をランダムに200個以上測定し、円に換算したときの径より平均孔径を求めることができる。

【0014】平均孔径、全表面積の定義

平均孔径は、捕捉材の任意の切断面に分散する細孔はいろいろな形で、その直径もさまざまであるが、ある切断面上に分散する細孔の平均直径のことである。平均孔径は $1\text{ }\mu\text{m}$ 未満であると血球の流路が狭すぎるため圧力損失が増大し、一方 $100\text{ }\mu\text{m}$ を超える平均孔径では、顆粒球や単球の捕捉性能が低下してしまう。このため平均孔径は $1\sim100\text{ }\mu\text{m}$ の範囲内にあることが好ましい。より好ましい範囲を示すと $1\sim30\text{ }\mu\text{m}$ である。更に好ましくは $2\sim20\text{ }\mu\text{m}$ 、最も好ましくは $3\sim15\text{ }\mu\text{m}$ である。

【0015】表面積の最適値

捕捉材の全表面積、即ち顆粒球や単球の捕捉面の表面積はいずれであっても使用できる。表面積は、捕捉材が $0.1\text{ }\mu\text{m}$ 以下の細孔を多数有する場合と不織布など細孔を有しない場合とで大きく異なる。本発明の顆粒球や単球を介してのエンドトキシン及び/またはエンドトキシンに起因するサイトカイン除去においては、細孔は除去に有効には作用しないため、細孔部分を除いた表面積で表現することが好ましい。この時、該表面積は $0.20\text{ m}^2/\text{m}^1$ 以上であることが好ましい。より好ましくは $0.50\text{ m}^2/\text{m}^1$ 以上であり、最も好ましくは $0.70\text{ m}^2/\text{m}^1$ 以上である。該表面積が $0.20\text{ m}^2/\text{m}^1$ 未満であると顆粒球や単球を捕捉できる表面積が少ないため、顆粒球や単球の漏出が起こり、好ましくない。一方、多数の細孔を有する捕捉材では血漿中に遊離したエンドトキシンも同時に直接吸着除去できる点で好ましい。この時細孔も含めた総表面積は $10\text{ m}^2/\text{m}^1$ 以上であることが好ましい。総表面積の上限は特に制限は不要であるが、多すぎると蛋白質の非特異吸着が増加するため好ましくない。このため $100\text{ m}^2/\text{m}^1$ 以下であることが好ましい。更に好ましくは $50\text{ m}^2/\text{m}^1$ 以下であり、 $20\text{ m}^2/\text{m}^1$ 以下であることが最も好ましい。尚、 $0.1\text{ }\mu\text{m}$ 以下の細孔部分を除いた表面積は水銀圧入法によって測定でき、また細孔部分を含めた総表面積は窒素吸着法(BET法)によって測定できる。

40 このうち $1\sim30\text{ }\mu\text{m}$ の孔部分の表面積は全表面積の50%以上、より好ましくは55%以上、最も好ましくは60%以上であることが望ましい。 $1\sim30\text{ }\mu\text{m}$ の孔部分の表面積は全表面積の60%以上、より好ましくは65%以上、最も好ましくは70%以上であることが望ましい。 $1\text{ }\mu\text{m}$ 未満の孔部分の表面積は38%以下、より好ましくは30%以下、最も好ましくは28%以下である。 $1\sim30\text{ }\mu\text{m}$ の孔部分の表面積が全表面積の50%未満であると、リンパ球漏出または目詰まりを誘発するため好ましくない。また、 $1\text{ }\mu\text{m}$ 未満の細孔部分は血球が通過し難い孔であるため、 $1\text{ }\mu\text{m}$ 未満の孔部分の表面

積が38%を超えると赤血球の回収量が低下するため、やはり好ましくない。

【0016】捕捉材の全細孔容積

細孔容積は、捕捉材の体積当たりの孔の体積の割合をいう。全細孔容積は、ある程度の機械的な強度をもたせるために、 $0.95\text{ m}^1/\text{m}^1$ 以下であることが好ましい。更に顆粒球や单球の捕捉性能の観点から、好ましい孔径の孔が多く存在し、その接触面積がより大きいことが有効であることより、全細孔容積は $0.4\text{ m}^1/\text{m}^1$ 以上であることが好ましく、 $0.45\text{ m}^1/\text{m}^1$ 以上であることがより好ましく、更に好ましくは $0.50\text{ m}^1/\text{m}^1$ 以上である。

【0017】捕捉材の平均纖維直徑、纖維直徑変動係数
不織布などの、纖維状の捕捉材を用いる場合、纖維径が孔径及び細孔分布に寄与する為、その有効な平均纖維直徑を示すことも重要である。本発明の平均纖維直徑の測定は走査型電子顕微鏡で纖維状の捕捉材の表面を撮影し、目視により撮影面上に分散している糸の直徑をランダムに100個以上測定して求める。機械的強度及び顆粒球や单球の捕捉性能において有効な捕捉材の纖維直徑は $0.3\mu\text{m}$ 以上 $10\mu\text{m}$ 以下で、糸径は細いほど顆粒球や单球の捕捉性能は向上することより、好ましくは $0.3\mu\text{m}$ 以上 $5\mu\text{m}$ 以下、更に好ましくは $0.3\mu\text{m}$ 以上 $3\mu\text{m}$ 以下である。更に、平均纖維直徑からの纖維直徑の変動の分布は、狭い方が好ましく、上下変動が20~60%以内である必要がある。好ましくは上下変動が20~50%以内で、更に好ましくは、20~45%以内のとき、均一な捕捉材を与える。尚、纖維状の捕捉材において湿潤時に膨潤するときは、乾燥時と湿潤時の纖維長さの変化率を光学顕微鏡で測定し、その変化率だけ纖維直徑も変化したとして補正することとする。

【0018】親水性被覆層の定義

捕捉材は、水溶液や血液との親和性をよくするために、親水性の重合体で実質的に覆われていてもよい。親水性被覆層は、接触角測定法によって求められる平板状にした時の表面の水滴の接触角が80度以下であるものが好ましく、重合体を重合体単位の单量体としての名前で例示すれば、ヒドロキシチレン、ヒドロキシメチルチレン、ビニルアルコール、2-ヒドロキシエチルアクリレート、2-ヒドロキシエチルメタクリレート、ビニルアミン、ジエチルアミノエチルチレン、ジエチルアミノエチルメタクリレート、メトキシトリエチレングリコールメタクリレート、ジメチルアミノエチル(メタ)アクリレートセグメント化ポリウレタン、セグメント化ポリエステル等のブロック共重合体、ポリエチレンオキサイド鎖を有する单量体と他の重合单量体のようなグラフト共重合体、エチレン-ビニルアルコール、ポリエステル、ポリエチレングリコール、等が例示できる。この中で、重合体中にヒドロキシル基を有していることが、特に血小板の過剰な捕捉を防止できるため好ましい。エン

ドトキシンは血小板にも付着していると考えられるため、エンドトキシン除去の目的には血小板の捕捉性も優れていることが好ましいが、一方で過剰な血小板の捕捉は血液凝固能を著しく低下させるため好ましくない。このため血小板捕捉率を例えば50%以下とすることは实用上好ましい。ヒドロキシル基の重合体中における結合様式に特に制限はない。これらの重合体の内、2-ヒドロキシエチルメタクリレート、エチレン-ビニルアルコール、ポリエチレングリコール、メトキシトリエチレングリコールメタクリレートが親水性の効果の点で好ましく、特にエチレン-ビニルアルコールが塩基性官能基の導入に際して活性基を導入し易く、且つ塩基性官能基導入時に剥離による親水性の低下が少ないためより好ましい。親水性被覆層は、上記重合体単位の単独重合体であってもよく、或いは2つ以上の共重合体であっても良く、線状重合体、グラフト重合体、架橋重合体などの重合形態には特に関係は無い。

【0019】被覆層を得る方法

捕捉材に親水性被覆層を得る方法には、被覆層を形成する化合物を溶解した液中に捕捉材を浸漬、或いは該液を噴霧することによってコーティングする方法、放射線や電子線を用いたグラフト法により捕捉材表面に共有結合する方法、或いは化学的方法により捕捉材表面の官能基を介して共有結合する方法などがある。この中で特にコーティングする方法が工業的に容易に行なえ、有利である。ここで言うコーティング法は、被覆層を形成する化合物中に重合性化合物も共存させ、コーティング後に架橋させるものであっても良い。こうして得られた被覆層の量、即ち被覆量は、被覆捕捉材表面積あたりの被覆層の重量で表す時、 $10^{-5}\text{ g}/\text{m}^2$ 以上で且つ $1\text{ g}/\text{m}^2$ 以下であった。被覆量が $10^{-5}\text{ g}/\text{m}^2$ 未満では親水化が不十分で、親水性被覆層としての効果が得られず、又、被覆量が $1\text{ g}/\text{m}^2$ を超えると実用時に剥離、或いは溶出の危険性が生じるため、好ましくない。この被覆層の特に好ましい量は $10^{-4}\text{ g}/\text{m}^2$ 以上 $10^{-1}\text{ g}/\text{m}^2$ 以下であった。

【0020】除去器

本発明の捕捉材は血液の入口と出口を有する容器に充填して、除去器として使用できる。容器形状としては、血液の入口と出口を有する容器で有れば特に限定はないが、取えて例を挙げると、公知の捕捉材を積層状に充填できる容器や、円柱状、三角柱状、四角柱状、六角柱状、八角柱状、等の角柱状容器、更に、捕捉材を円筒状に巻きこれを充填できる容器、又は、血液の流れが円筒の外周より入り内側へと流れ、最も内側に集まり血液流出口より出ることを特徴とする容器等が良好な形状となる。又、錐状等の断面積が入口から出口に向かうに従つて、小さくなる形状を有する容器等が用いられる。この時の捕捉材の血液渦過断面積(渦過面積)と血液渦過長(捕捉材の厚み)の比(断面積/厚み、S/L)は、小

さすぎると断面積が不足して血液の流れ抵抗が大きくなりすぎるため好ましくなく、又大きすぎると血液の片流れなどの流れの不均一がおこり易くなつて顆粒球及び／又は单球の粘着による捕捉率が低下してしまうため、やはり好ましくない。好ましいS/Lは、10cm以上500cm以下である。

【0021】ここで血液成分の凝集物その他の、より大きな固体物による目詰まりを防止し、使用中の圧上昇を抑制するために、平均孔径が本捕捉材よりも大きな沪過材料を、捕捉材より血液の上流側に設けても良い。ここでいう沪過材料の平均孔径は10~300μmであることが好ましく、より好ましくは10~150μm、最も好ましくは10~100μmである。平均孔径が10μm未満であると、沪過材料表面で血球による目詰まりを引き起こし、圧力損失が増大するため不適である。一方、平均孔径が300μmを超えるものであると、血球の凝集物などの血球より大きな成分を捕捉材に先だって予め除去して該成分による捕捉材での目詰まりを防止するという沪過材料としての効果が十分に得られないと好ましくない。

【0022】除去器の充填密度

充填密度は、容器中に該捕捉材を充填した時の一定体積当たりの重さをいい、該容器に該捕捉材を充填密度0.05g/cm³以上0.5g/cm³以下充填して、除去器とする事が望ましい。更に、目詰まりを防ぎ、圧損の上昇を防ぎ流れをスムーズにするために、好ましい充填密度は、0.1g/cm³以上0.4g/cm³以下で、更に好ましい充填密度は0.1g/cm³以上0.3g/cm³以下である。

【0023】除去器の断面積、厚み

除去器の好ましい有効断面積は何れの大きさでも良いが、その製造上の容易さ及び血液処理量より0.5cm²以上300cm²以下が好ましく、小型化及び操作性の観点から好ましくは250cm²以下、更に好ましくは、200cm²以下が好ましい。また、捕捉材全体の厚みは、その形状に依存するが、実用的な範囲として捕捉材全体の厚みが0.1mm以上500mm以下が好ましい。プライミングから考慮すると好ましくは0.1mm以上450mm以下が好ましく、更に好ましくは0.1mm以上400mm以下が実用的である。

【0024】除去器のプライミングボリューム

本発明の除去器のプライミング量は、何れの量でも良いが、その量は操作性の面及び処理時間の短縮のため少ないことが好ましい。好ましいプライミング量の例を示すと、5~1000mlが良く、更に好ましくは10~300ml、最も好ましくは、50~300mlである。

【0025】除去器の滅菌方法

滅菌方法は、公知の何れの方法を用いても良いが、敢えて例を挙げるならば、オートクレーブ等の熱滅菌、エチレンオキサイドガス(EOG)滅菌、γ線滅菌、電子線

滅菌等の放射線滅菌、UV照射等の滅菌法を使用できる。

【0026】除去器の使用形状

本発明の除去器の使用方法の具体例を示すと、除去器の前後に血液バッグ、血液回路、チェンバー、クランプ、ローラクランプ、ドリップチェンバー、針、メッシュ付きドリップチェンバー、血液ポンプ用チューブ等の何れか若しくは複数組み込んだ、例えば体外循環用回路あるいは輸血用回路などを用いることができる。また、回路中に組み込まれる機材は、上記に限定される物ではない。更に、血液処理は回路の途中に血液ポンプ或いは送液ポンプ或いは吸引ポンプ等のポンプを組み込んで使用することもできる。また、血液の自重による落差でも良好に用いることができる。

【0027】捕捉条件

血液を灌流する流速は遅い方が捕捉率は高くなるが、処理時間は長くなり好ましくない。逆に早いと処理時間を短くできるが捕捉率は低下してしまう。このため流速は1ml/分以上、1000ml/分以下であることが良い。

20 い。より好ましい流速は、5ml/分以上、500ml/分以下である。流速は実際には沪過の有効断面積当たりの値、即ち線速で表現することが除去器の大きさや設計によらず、有用である。線速の好ましい範囲は、0.05cm/分以上であり、100cm/分以下である。最も好ましいのは線速が0.1cm/分以上であり、50cm/分以下であるときである。また、血液の通過方法としては、使用上の必要に応じ、或いは設備の装置状況に応じて、連続的に通過しても良いし、また断続的に通過しても良い。この時高い捕捉性能を得るために、

30 滞留時間は長い方がよく、好ましくは除去器内での血液の滞留時間は0.5分以上である。また長時間血液が除去器内に滞留すると、血液成分の非特異吸着や血液凝固を引き起こす危険性が生じる。よって、滞留時間は30分以下であることが好ましい。

【0028】捕捉顆粒球・单球の利用

除去器に付着した顆粒球及び／または单球は、除去器を振動しながら磷酸緩衝生理食塩液や乳酸リングル液などの生理的食塩液、或いは微量の界面活性剤を含む生理的食塩液を灌流することで回収し、回収後生理的食塩液或いは微量の界面活性剤を含む生理的食塩液で洗浄して、再利用する事もできる。

【0029】

【発明の効果】本発明の除去器により、エンドトキシン含有血液中よりエンドトキシン及び／またはエンドトキシンに起因するサイトカインを効率良く、しかも手軽に除去することができる。

【0030】

【実施例】

【実施例1】ポリエチレンテレフタレートを溶融押し出し紡糸して不織布を得た。この不織布は、目付け40g

11

/m²、厚み0.32mm、密度0.126、平均繊維直径1.6μm、CWST値58dyne/cm、平均孔径5.3μm、孔径1μm以上100μm以下の孔の孔容積率76%であった。不織布をエンドトキシン捕捉材として、7.5cm幅、長さ240cmに切断して円筒型に巻き、両端をウレタンで接着固化した。不織布量は12gであった。この円筒型不織布を内径4cm、長さ8cmの円筒型容器に充填した。容器には、円筒型不織布の外周側より中心部に向かって血液が流れるよう入口と出口とを設けて除去器とした。除去器は、磷酸緩衝生理食塩液を充填して121℃で1時間のオートクレーブ滅菌した。この除去器の捕捉率は98%であった。頸動脈部にシャントを有する体重22kgの健常成犬に、エンドトキシンとして大腸菌のリポポリサッカライドを体重1kgあたり0.5mgを投与してエンドトキシン含有血液を作成した。投与後、シャントにカテーテルを挿入して体外循環回路にて血液を採取した。カテーテルを通して得た血液に、抗凝固剤としてメシル酸ナファモスタット25mg/時を混合した後、ポンプで除去器に血液灌流速度30ml/分で灌流して、エンドトキシン除去血液を得た。除去器でエンドトキシンを除去した血液は軽的に健常成犬にもどした。エンドトキシンに起因する症状の観察を行って、エンドトキシン及びサイトカインの吸着除去効果の判定をした。エンドトキシンに起因する血圧低下が見られたが、健常成犬はエンドトキシンによる致死的な症状を呈さず、本除去器によって効果的にエンドトキシン及びエンドトキシンに起因するサイトカインを除去できた。

【0031】

【実施例2】溶液の入口と出口とを有する内径2cm×2cmの正方形の容器に、実施例1のエンドトキシン捕捉材を5mmの厚みで充填して、除去器とした。ヒト血

12

液より比重遠心法によって白血球を採取し、ハンクス液(Hanks液)で5×10⁶個/mlとなるように白血球浮遊液を調整した。この白血球浮遊液に0.05EU/mlのエンドトキシンを溶解し、37℃で2時間、振盪して、エンドトキシン含有液とした。除去器にエンドトキシン含有液10mlを0.5ml/分で灌流し、除去器流出液を採取した。除去器流出液中には白血球は見いだせなかった。この除去器流出液中のエンドトキシン濃度をジアゾカップリング法で測定したところ、0.03EU/mlであった。本除去器により、40%のエンドトキシンが吸着除去できた。

【0032】

【実施例3】BALB/cマウス血液10mlに、エンドトキシン0.5mg/mlを加え、37℃で2時間振盪下で反応させた。次にこのエンドトキシン含有血液を実施例2の除去器に、0.5ml/分で灌流し、除去器流出血液を採取した。除去器流出血液1mlをBALB/cマウス5匹の尾静脈に投与したところ、エンドトキシンに起因する死亡は1匹のみであり、ほとんどが生存した。

【0033】

【比較例1】実施例1と同様にして健常成犬にエンドトキシンを投与してエンドトキシン含有血液を作成し、エンドトキシンに起因する症状の観察を行ったところ、大きな血圧低下などエンドトキシンに起因する致死的な症状を示した。

【0034】

【比較例2】実施例3と同様にして得たエンドトキシン含有血液を、除去器に灌流すること無く1mlをBALB/cマウス5匹の尾静脈に投与したところ、エンドトキシンに起因する死亡が4匹であり、ほとんどが死亡した。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.